

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-181

(43) 公開日 平成7年(1995)1月6日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 1/38		7236-4B		
// (C 1 2 N 1/38				
C 1 2 R 1:44)				

審査請求 未請求 請求項の数3 F D (全 5 頁)

(21) 出願番号	特願平4-182799	(71) 出願人	390023951 極東製薬工業株式会社 東京都中央区日本橋本町3丁目1番1号
(22) 出願日	平成4年(1992)6月18日	(71) 出願人	593042904 田口 文章 神奈川県相模原市陽光台5-14-1
		(72) 発明者	田口 文章 神奈川県相模原市陽光台5-14-1
		(72) 発明者	宮尾 均 茨城県高萩市高萩230-11
		(72) 発明者	大久保 華子 茨城県高萩市有明町3-44-16カナディア ンハイツA-201
		(74) 代理人	弁理士 松井 光夫

(54) 【発明の名称】 多剤耐性ブドウ球菌を選択的に培養するための培地

(57) 【要約】

【構成】 ブドウ球菌を選択的に培養するための培地に、多剤耐性を判定するための抗生物質として、培地1ml当たり、オキサシリン系抗生剤を1.6 μ g以上、およびセフトゾキシム系抗生剤を6.25 μ g以上含む多剤耐性ブドウ球菌培養用培地。

【効果】 多剤耐性を示すブドウ球菌を選択的に増殖させて検出することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ブドウ球菌を選択的に培養するための培地に、多剤耐性を判定するための抗生物質として、培地1ml当たり、オキサシリン系抗生物質を1.6 μ g以上およびセフトキシム系抗生物質を6.25 μ g以上含むことを特徴とする多剤耐性ブドウ球菌培養用培地。

【請求項2】 さらに、培地1ml当たり、ゲンタマイシン系抗生物質を6.25 μ g以上含む請求項1記載の培地。

【請求項3】 ブドウ球菌を選択的に培養するための培地が、精製水1000mlに、カザミノ酸14.8~18.2g、ハートエキス2.7~3.3g、水溶性デンプン1.45~1.65g、ブドウ糖5~15g、L-トリプトファン0.045~0.055g、L-シスチン0.045~0.055g、CaCl₂0.166~0.202g、MgCl₂0.188~0.23g、NaCl6.8~8.3g、ビルビン酸ナトリウム0~15g、卵黄液1~10%（重量/体積）、寒天13.5~16.5g、マンニット5~20gおよび色素10~30mgを添加してなるものである請求項1または2項に記載の培地。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、多剤耐性を示すブドウ球菌、すなわちメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（以下、MRSAと略記する）および黄色ブドウ球菌以外のブドウ球菌、例えばコアグラゼ陰性ブドウ球菌（以下、CNSと略記する）等のうち多剤耐性を示す菌を選択的に培養するための培地に関する。さらに詳しくは、ブドウ球菌感染症の治療指針や、院内感染予防のための病院内環境汚染状況の把握および改善に必要な情報を得るために有用な上記培地に関する。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】患者血液や尿などの検体中、食品中あるいは病院環境中のブドウ球菌の検出には、従来使用されている細菌培地として、スタフィロコックス培地No.110、マンニット食塩加培地、食塩卵寒天基礎培地などがあり、これらの培地はブドウ球菌を選択的に分離するための培地として使用することができる。

【0003】しかし、これらの培地はブドウ球菌を選択的に増殖させることができるが、薬剤耐性ブドウ球菌であるか否かの鑑別をすることはできない。このため、薬剤に対する耐性を知るには、これらのブドウ球菌選択培地上にできたブドウ球菌の集落を採取し、集落の1つ1つについて別個に薬剤感受性試験を行うことが必要であった（J. Clin. Microbiol. 18:1084-1091, 1983およびJ. Clin. Microbiol. 19:482-488, 1984）。このように、従来の方法では2段階の検査を行うため検査日数が長くなり、また検査費用も高くなってしまふ。

【0004】さらにまた、上記のブドウ球菌選択培地は、ブドウ球菌を選択的に分離培養するための培地であり、検体中の薬剤耐性の性質を保有するブドウ球菌の菌数を知ることができないという問題もある。

【0005】そこで、メチシリン（感染症学雑誌、64巻、5号、第549-556頁）、セフトキシム（医学検査、41巻、3号、第540頁）等の抗生物質を単独で培地に含有させて、抗生物質に耐性を示すブドウ球菌選択的に増殖させる方法が試みられたが、多剤耐性のブドウ球菌を選択的に増殖させる培地として実用可能なものは未だ見出されていない。

【0006】そこで本発明は、多剤耐性の性質を保有するブドウ球菌を効率的にかつ選択的に増殖させることのできる培地を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、多剤耐性を示すブドウ球菌を選択的に分離培養するための培地について鋭意検討を重ねた結果、メチシリン耐性菌の指標薬剤としてオキサシリン系抗生物質を用い、これと、見掛上メチシリン感受性のブドウ球菌においてメチシリン耐性を誘導することができる薬剤であり、しかも他のセフェム系の薬剤と違って、不活化酵素により分解されにくく、安定に培地中に存在することができるセフトキシム系抗生物質とを組合せて用いると、多剤耐性を示すブドウ球菌を選択的に分離培養できることを見出した。

【0008】すなわち本発明の培地は、ブドウ球菌を選択的に培養するための培地に、多剤耐性を判定するための抗生物質として、培地1ml当たり、オキサシリン系抗生物質を1.6 μ g以上およびセフトキシム系抗生物質を6.25 μ g以上含むことを特徴とする。

【0009】「多剤耐性」とは一般に、メチシリン等の β -ラクタム系抗生物質を始めとし、現在広く使用されている全ての抗生物質（例えばアミノグリコシド系、マクロライド系、テトラサイクリン系等）のうちの複数薬剤に対して耐性を示すことをいっている。

【0010】本発明の培地は、多剤耐性のブドウ球菌を選択的に分離培養するために、培地中にオキサシリン系抗生物質およびセフトキシム系抗生物質を組合せて含むことを特徴とする。両者が含有されることが必須であり、どちらか一方を含むだけでは本発明の効果を発揮できない。オキサシリン系抗生物質としては、6-アミノペニシラン酸のメチルフェニルイソキサゾリル誘導体等を包含する。またセフトキシム系抗生物質としては、(6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-アミノ-4-チアゾリル)-2-メトキシイミノアセタミド]-8-オキソ-5-チア-1-アザビシクロ[4.2.0]オクト-2-エン-2-カルボン酸、7-[(Z)-2-(2-アミノ-4-チアゾリル)-2-メトキシイミノアセタミド]-3-セフェム-4-カルボン酸等を包含する。オキサシリン系抗生物質は培地1ml当たり、1.6 μ g以上の量で培地中に含まれる。これより少ないと薬剤感受性菌の発育

を許すので、本発明の効果を発揮できない。含有量の上限は特に必要ないが、多すぎると多剤耐性菌の発育抑制を招くこともあるので、6.2 μ g以下が好ましい。使用量の至適範囲は、培地1ml当たり1.6~4.0 μ gである。また、セフトキシム系抗生剤は培地1ml当たり6.25 μ g以上の量で培地中に含まれる。これより少ないと薬剤感受性菌の発育を許すので、本発明の効果を発揮できない。含有量の上限は特に必要ないが、多すぎると多剤耐性菌の発育抑制を招くこともあるので、25 μ g以下が好ましい。使用量の至適範囲は、培地1ml当たり6.25~12.5 μ gである。

【0011】本発明の培地はまた、上記の2種の抗生剤に加えてさらにゲンタマイシン系抗生剤を6.25 μ g以上含むのが好ましい。これは、入院患者由来のMRSA株の多くはゲンタマイシン耐性で、医療従事者より分離されるMRSA株の多くはゲンタマイシン感受性であるということから、多剤耐性菌のなかでも特に、ゲンタマイシン耐性かどうかを判別することは臨床的意義が大きいからである。使用するゲンタマイシン系抗生剤としては、ゲンタマイシンC₁ (C₂₁H₄₃N₅O₇)、ゲンタマイシンC₂、ゲンタマイシンC_{1a}等が包含される。ゲンタマイシン系抗生剤は、培地1ml当たり6.25 μ g以上の量で培地中に含まれるのが好ましい。また、多すぎたときの多剤耐性菌の発育抑制を避けるためには25 μ g以下が好ましい。使用量の至適範囲は、培地1ml当たり6.25~12.5 μ gである。

【0012】本発明において、ブドウ球菌を選択的に培養するための培地とは、当業者に公知の、ブドウ球菌培養のための培地に慣用的に用いられる成分を含む培地をいう。そのような成分としては例えば、カザミノ酸、ハートエキス（ハートインフュージョン）、種々のペプトン、酵母エキス、肉エキス、水溶性デンプン、ブドウ糖、L-トリプトファン、L-シスチン、ピオチン、CaCl₂、MgCl₂、NaCl、ビルビン酸（ナトリウム）、卵黄液、寒天、マンニット、色素等が挙げられる。これらの成分を精製水に加えて培地を製造することができる。

【0013】特に、ブドウ球菌のなかでもMRSAとその他の多剤耐性ブドウ球菌（例えばCNS）を区別するためには、卵黄反応とマンニット反応を組合せて使用するのが好ましいので、培地に卵黄液、マンニットおよび色素を含むのが好ましい。卵黄液は1~10%（重量/培地体積）含むのが好ましい。またマンニットは5~20g/培地1リットル、および色素（例えばブロムクレゾールパープル、フェノールレッド、ニュートラルレッド、ブロムチモールブルー等）は10~30mg/培地1リットル含むのが好ましい。卵黄反応により、MRSAは集落周囲の黄濁環および、集落周囲培地表面の真珠光沢環を有する集落として、その他は集落周囲を変化させない集落として区別される。またマンニット反応により、MRSAは

集落周囲の培地色の黄変として、またその他は培地色を変化させない集落として区別される。

【0014】具体的なブドウ球菌培養用の培地組成の例としては、例えばミューラーヒントン培地、トリブチケースソイ培地、ハートインフュージョン培地、普通寒天培地等の基礎培地に、卵黄液、食塩、マンニット、ブドウ糖、アミノ酸類、ビルビン酸等の付加的成分を添加したものが挙げられる。

【0015】ブドウ球菌培養用培地の組成の好ましい例としては、例えば次のような組成が挙げられる。すなわち、精製水1000mlに、カザミノ酸14.8~18.2g、ハートエキス2.7~3.3g、水溶性デンプン1.45~1.65g、ブドウ糖5~15g、L-トリプトファン0.045~0.055g、L-シスチン0.045~0.055g、CaCl₂ 0.166~0.202g、MgCl₂ 0.188~0.23g、NaCl 6.8~8.3g、ビルビン酸ナトリウム0~15g、卵黄液1~10%（重量/体積）、寒天13.5~16.5g、マンニット5~20gおよび色素10~30mgを添加する。

【0016】本発明の培地のpHは、好ましくは7.0~7.8、至適pHは7.4±0.2である。

【0017】本発明の培地は、常法により培養を行うことができる。例えば菌体を塗抹した培地を、通常32~38℃、特に好ましくは35℃前後で、通常18~48時間、好ましくは約24時間培養を行う。

【0018】

【実施例】以下の実施例により本発明をさらに詳しく説明する。なお、実施例では、次の培地を使用した。

本発明の平板培地A

オキサシリン 4mg、セフトキシム 12.5mg、カザミノ酸 15.5g、ハートエキス 3.0g、水溶性デンプン 1.5g、ブドウ糖 2.0g、L-トリプトファン 0.05g、L-シスチン 0.05g、CaCl₂ 0.15g、MgCl₂ 0.1g、NaCl 7.5g、ビルビン酸ナトリウム1g、寒天 15g、マンニット 10g、およびブロムクレゾールパープル20mgに精製水1000mlを加えた。これを滅菌した後、卵黄液を5%（重量/体積）の割合に加え、シャーレに各20ml流し入れ、固化させた。

本発明の平板培地B

オキサシリン 4mg、セフトキシム 12.5mg、ゲンタマイシン 12.5mg、カザミノ酸 15.5g、ハートエキス 3.0g、水溶性デンプン 1.5g、ブドウ糖 2.0g、L-トリプトファン 0.05g、L-シスチン 0.05g、CaCl₂ 0.15g、MgCl₂ 0.1g、NaCl 7.5g、ビルビン酸ナトリウム 1g、寒天 15g、マンニット 10g、およびブロムクレゾールパープル 20mgに精製水1000mlを加えた。これを滅菌した後、

卵黄液を5%（重量／体積）の割合に加え、シャーレに各20ml流し入れ、固化させた。

比較例の平板培地A（抗生物質を含まないこと以外は本発明の培地と等しい成分を含有）

カザミノ酸 15.5g、ハートエキス 3.0g、水溶性デンプン 1.5g、ブドウ糖 2.0g、L-トリプトファン 0.05g、L-シスチン 0.05g、CaCl₂ 0.15g、MgCl₂ 0.1g、NaCl 75g、ピルビン酸ナトリウム 1g、寒天 15g、マンニト 10g、およびブロムクレゾールパープル 20mgに精製水1000mlを加えた。これを滅菌した後、卵黄液を5%（重量／体積）の割合に加え、シャーレに各20ml流し入れ、固化させた。

比較例の平板培地B（マンニト食塩卵黄培地）

肉エキス 1.0g、ペプトン 10.0g、マンニッ

ト 10.0g、NaCl 75.0g、フェノールレッド 0.025gおよび寒天 15.0g（極東マンニトソルト寒天培地として極東製薬工業株式会社より市販）に精製水1000mlを加えた。これを滅菌した後、卵黄液を5%（重量／体積）の割合に加え、シャーレに各20ml流し入れ、固化させた。

実施例1～2および比較例1～2

MRSAと判明している黄色ブドウ球菌20株およびメチシリン感受性黄色ブドウ球菌（以下、MSSAと略記する）20株を、本発明の平板培地、比較例の平板培地Aおよび比較例の平板培地Bのそれぞれに塗抹し、35℃で約24時間培養を行い、黄色ブドウ球菌の増殖を検討した。

結果を表1に示す。

【0019】

【表1】

表 1

	培地	MRSA	MSSA
実施例1	本発明の平板培地A	20株	0株
実施例2	本発明の平板培地B	20株	0株
比較例1	比較例の平板培地A	20株	20株
比較例2	比較例の平板培地B	20株	20株

【0020】比較例の平板培地においてはいずれも、試験菌株すべてが増殖しているが、本発明の平板培地においては、MRSAのみが選択的に増殖した。

実施例3および比較例3～4

多剤耐性CNSであると判明しているCNS 20株およびメチシリン感受性のCNS 20株を、本発明の平板培地、比

較例平板培地Aおよび比較例平板培地Bのそれぞれに塗抹し、35℃で約24時間培養を行い、CNSの増殖を検討した。結果を表2に示す。

【0021】

【表2】

表 2

	培地	多剤耐性CNS	メチシリン感受性CNS
実施例3	本発明の平板培地A	20株	0株
比較例3	比較例の平板培地A	20株	20株
比較例4	比較例の平板培地B	20株	20株

【0022】比較例の平板培地においてはいずれも、試験菌株すべてが増殖しているが、本発明の平板培地においては、多剤耐性を示すメチシリン耐性CNSのみが選択的に増殖した。

実施例4

病院従事者間におけるMRSA保有状況を把握するため、病院従事者5人（A、B、CおよびD）の鼻前底、咽頭お

および手のひらの皮膚表面を滅菌綿棒にて拭い、この綿棒を1mlの滅菌生理食塩水に良くほぐしたものを検体として使用した。この検体0.1mlを本発明の平板培地表面に均一に塗抹し、37℃で約24時間培養を行って、菌の増殖を検討した。なお、MRSA以外のブドウ球菌の集落については、家兎プラズマ凝固試験（コアグラーゼ試験）においてすべての株が陰性であることにより、

多剤耐性CNSであることを判定した。結果を表3に示す。

【0023】

【表3】

表 3

部位	対象者	菌数	
		MRSA	CNS
鼻前底	A	1	0
	B	1	5
	C	0	4
	D	7	9
	E	0	0
咽頭	A	0	0
	B	1	0
	C	0	0
	D	3	4
	E	0	0
手のひら	A	0	0
	B	0	3
	C	0	0
	D	0	0
	E	0	1

【0024】

【発明の効果】本発明によれば、多剤耐性を示すブドウ

球菌を選択的に増殖させて検出することができる。よって、本発明の培地は非常に有用である。

*** NOTICES ***

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.*** shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1]A culture medium for drug-resistant Staphylococcus culture by which more than 1.6microg and a ceftizoxime system antibiotic being included per 1 ml of culture media, and for an oxacillin system antibiotic in a culture medium for cultivating Staphylococcus selectively as an antibiotic for judging multiple drug resistance as for more than 6.25microg.

[Claim 2]The culture medium according to claim 1 as for which more than 6.25microg contains per 1 ml of culture media, and a gentamycin system antibiotic.

[Claim 3]A culture medium for cultivating Staphylococcus selectively to 1000 ml of purified water. The casamino acids 14.8-18.2g, the heart extracts 2.7-3.3g, The water soluble chlorophyll derivatives 1.45-1.65g, the grape sugar 5-15g, L-tryptophans 0.045-0.055g, L-cystine 0.045-0.055g, 0.166-0.202 g of CaCl₂, 0.188-0.23 g of MgCl₂, 6.8-8.3 g of NaCl(s), A culture medium given in claim 1 or the 2nd paragraph which is what adds the sodium pyruvate 0-15g, 1 to 10% (weight/volume) of yolk liquid, the agar 13.5-16.5g, the mannites 5-20g, and 10-30 mg of coloring matter.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application]Staphylococcus which this invention shows multiple drug resistance, i.e., methicillin resistant Staphylococcus aureus, It is related with the

culture medium for cultivating selectively the bacillus in which multiple drug resistance is shown among staphylococci other than (it being hereafter written as MRSA), and Staphylococcus aureus, for example, coagulase negative Staphylococcus etc., (it is hereafter written as CNS). In order to acquire the medical guideline of the staphylococcia, and information required for the grasp and improvement of a hospital milieu-interne contamination situation for hospital infection prevention in more detail, it is related with the useful above-mentioned culture medium.

[0002]

[Description of the Prior Art]For detection of Staphylococcus in samples, such as patient blood and urine, foodstuffs, or hospital environment. As a bacteria culture medium currently used conventionally, there are SUTAFIRO cox culture-medium No.110, mannite salt *****, a salt egg agar basal medium, etc., and these culture media can use Staphylococcus as a culture medium for dissociating selectively.

[0003]However, although these culture media can proliferate Staphylococcus selectively, it cannot be judged whether it is drug tolerance Staphylococcus. For this reason, in order to get to know the tolerance over drugs, the colony of

Staphylococcus which grew on these Staphylococcus selective media is extracted, It was required to do a drug sensitivity examination separately about each of colonies (J. Clin. Microbiol.18:1084-1091-1983 and J. Clin. Microbiol.19:482-488-1984). Thus, by the conventional method, in order to conduct two steps of inspections, the number of check dates will become long, and an inspection fee will also become high.

[0004]The above-mentioned Staphylococcus selective medium is a culture medium for carrying out isolation culture of Staphylococcus selectively further again. There is also a problem that number of microorganism of Staphylococcus which holds the character of the drug tolerance in a sample cannot be known.

[0005]then, Staphylococcus which makes a culture medium contain antibiotics, such as methicillin (an infectious disease study magazine, 64 volumes, No. 5, the 549 to 556th pages), and ceftizoxime (a medicine inspection, 41 volumes, No. 3, the 540th page), independently, and shows tolerance to an antibiotic, although the method of proliferating selectively was tried, The thing usable as a culture medium which proliferates drug-resistant Staphylococcus selectively is not yet found out.

[0006]Then, an object of this invention is to provide the culture medium which can proliferate Staphylococcus which holds drug-resistant character efficiently and selectively.

[0007]

[Means for Solving the Problem]As a result of repeating examination wholeheartedly about a culture medium for carrying out isolation culture of Staphylococcus in which multiple drug resistance is shown selectively, this invention persons using an oxacillin system antibiotic as index drugs of methicillin resistant bacteria This, They are drugs which can derive methicillin tolerance in Staphylococcus of methicillin sensitivity seemingly, And unlike drugs of other cephem systems, an inactivated enzyme was hard to be decomposed, and when used combining a ceftizoxime system antibiotic which can exist in a culture medium stably, it found out that the isolation culture of Staphylococcus in which multiple drug resistance is shown could be carried out selectively.

[0008]That is, as for a culture medium of this invention, more than 6.25microg contains more than 1.6microg and a ceftizoxime system antibiotic in a culture medium for cultivating Staphylococcus selectively per 1 ml of culture media, and for an oxacillin system antibiotic as an antibiotic for judging multiple drug resistance.

[0009]Generally, "multiple drug resistance" made beta **RAKUTAMU system antibiotics, such as methicillin, the start, and has meant that tolerance is shown to two or more drugs of all the antibiotics (for example, an aminoglycoside system, a macrolide system, tetracyclines, etc.) used widely now.

[0010]A culture medium of this invention is included combining an oxacillin system antibiotic and a ceftizoxime system antibiotic in a culture medium, in order to carry out isolation culture of drug-resistant Staphylococcus selectively. It is indispensable that both contain and an effect of this invention cannot be demonstrated only by either being included. As an oxacillin system antibiotic, a methylphenyl isoxazolyl derivative of 6-aminopenicillanic acid, etc. are included. As a ceftizoxime system antibiotic, it is [- Azabicyclo [4.2.0] oct 2-ene- 2- carboxylic acid,]-7-(6R,7R) [(Z)-2-(2-amino-4- thiazolyl)-2-Methoxy imino acetamido]-8-Oxo 5 - ***- 1 7-[(Z)-2-(2-amino-4- thiazolyl)-2-Methoxy imino acetamido]-3-Cephem 4- carboxylic acid etc. are included. An oxacillin system antibiotic is contained in a culture medium in quantity more than 1.6micro[per ml of culture medium] g. Since growth of a drug sensitivity bacillus will be allowed if less than this, an effect of this invention cannot be demonstrated. Although a maximum in particular of content is unnecessary, since growth control of a drug-resistant strain may be caused when too large, below 6.2microg is preferred. The optimum range of the amount used is 1.6-4.0microg per 1 ml of culture media. A ceftizoxime system antibiotic is contained in a culture medium in quantity more than 6.25microg per ml of culture medium g. Since growth of a drug sensitivity bacillus will be allowed if less than this, an effect of this

invention cannot be demonstrated. Although a maximum in particular of content is unnecessary, since growth control of a drug-resistant strain may be caused when too large, below 25microg is preferred. The optimum range of the amount used is 6.25–12.5microg per 1 ml of culture media.

[0011]As for a culture medium of this invention, it is preferred that add to two sorts of above-mentioned antibiotics, and a gentamycin system antibiotic is included further again as for more than 6.25microg. It is because clinical meaning is large to distinguish whether it is gentamycin tolerance also especially in a drug-resistant strain, since it says that many of MRSA stocks of inpatient origin of this are gentamycin tolerance, and many of MRSA stocks separated from health care professionals are gentamicin sensitivity. As a gentamycin system antibiotic to be used, gentamycin C₁ (C₂₁H₄₃N₅O₇), gentamycin C₂, gentamycin C_{1a}, etc. are included. As for a gentamycin system antibiotic, it is preferred to be contained in a culture medium in quantity more than 6.25microg per ml of culture medium g. In order to avoid growth control of a drug-resistant strain at a time too of many, below 25microg is preferred. The optimum range of the amount used is 6.25–12.5microg per 1 ml of culture media.

[0012]In this invention, a culture medium for cultivating Staphylococcus selectively means a culture medium containing an ingredient idiomatically used for a culture medium publicly known to a person skilled in the art for the Staphylococcus culture. As such an ingredient, for example, casamino acids, a heart extract (heart infusion), Various peptone, a yeast extract, a meat extract, water soluble chlorophyll derivatives, grape sugar, L-tryptophan, L-cystine, biotin, CaCl₂, MgCl₂, NaCl, pyruvic acid (sodium), yolk liquid, agar, mannite, coloring matter, etc. are mentioned. These ingredients can be added to purified water and a culture medium can be manufactured.

[0013]Since it is preferred to use it combining an egg yolk reaction and a mannite reaction in order to distinguish drug-resistant Staphylococcus (for example, CNS) of MRSA and others also in Staphylococcus especially, it is preferred that yolk liquid, mannite, and coloring matter are included in a culture medium. As for yolk liquid, it is preferred to contain 1 to 10% (weight / culture medium body product). As for mannite, it is preferred that 1 l. of 5–20g / culture media, and coloring matter (for example, bromcresol purple, Phenol Red, neutral red, bromthymol blue, etc.) are included as for 1 l. of 10–30 mg / culture media. By an egg yolk reaction, others are distinguished as a colony to which the circumference of a colony is not changed as a colony where MRSA has a muddiness ring of the circumference of a colony, and a pearly luster ring of the circumference [colony] culture-medium surface. As for MRSA, by a mannite reaction, others as yellowing of a culture-medium color of the circumference of a

colony are distinguished as a colony to which a culture-medium color is not changed.

[0014]As an example of a concrete medium composition for the Staphylococcus culture, For example, what added additional ingredients, such as yolk liquid, salt, mannite, grape sugar, amino acid, and pyruvic acid, is mentioned to basal media, such as a Mueller-Hinton agar, a TORIPUCHIKESUSOI culture medium, a heart infusion culture medium, and a nutrient agar medium.

[0015]As an example with a preferred presentation of a culture medium for the Staphylococcus culture, the following presentations are mentioned, for example. To 1000 ml of purified water, namely, the casamino acids 14.8-18.2g, The heart extracts 2.7-3.3g, the water soluble chlorophyll derivatives 1.45-1.65g, The grape sugar 5-15g, L-tryptophans 0.045-0.055g, L-cystine 0.045-0.055g, 0.166-0.202 g of CaCl_2 , 0.188-0.23 g of MgCl_2 , NaCl 6.8-8.3g, the sodium pyruvate 0-15g, 1 to 10% (weight/volume) of yolk liquid, the agar 13.5-16.5g, the mannites 5-20g, and 10-30 mg of coloring matter are added.

[0016]pH of a culture medium of this invention is preferred, and 7.0-7.8, and optimal pH are 7.4 ± 0.2 .

[0017]A culture medium of this invention can be cultivated with a conventional method. For example, 32-38 °C of culture is usually especially performed for a culture medium which carried out the smear of the biomass preferably at around 35 °C for about 24 hours for 18 to 48 hours.

[0018]

[Example]The following examples explain this invention in more detail. The following culture medium was used in the example.

Plate agar A oxacillin of this invention 4 mg, ceftizoxime 12.5 mg, Casamino acids 15.5 g, heart extract 3.0 g, water soluble chlorophyll derivatives 1.5 g, Grape sugar 2.0 g, L-tryptophan 0.05 g, L-cystine 0.05 g, CaCl_2 0.15g, MgCl_2 0.1g, NaCl 75g, the sodium pyruvate 1g, agar 15 g, mannite 1000 ml of purified water was added to 10 g and 20 mg of bromcresol purple. After sterilizing this, yolk liquid is added to the rate of 5% (weight/volume), it passed 20 ml each on the petri dish, and it was solidified.

Plate agar B oxacillin of this invention 4 mg, ceftizoxime 12.5 mg, Gentamycin 12.5 mg, casamino acids 15.5 g, heart extract 3.0 g, 1.5 g of water soluble chlorophyll derivatives, grape sugar 2.0 g, L-tryptophan 0.05 g, L-cystine 0.05 g, CaCl_2 0.15g, MgCl_2 0.1g, NaCl 75g, sodium pyruvate 1 g, agar 15 g, mannite 10 g and bromcresol purple 1000 ml of purified water was added to 20 mg. After sterilizing this, yolk liquid is added to the rate of 5% (weight/volume), it passed 20 ml each on the petri dish, and it was solidified.

Plate agar A of a comparative example (an ingredient equal to the culture medium of this invention is contained except an antibiotic not being included)

Casamino acids 15.5 g, heart extract 3.0 g, water soluble chlorophyll derivatives 1.5 g, The grape sugar 2.0g, L-tryptophan 0.05 g, L-cystine 0.05 g, CaCl_2 0.15g, MgCl_2 0.1g, NaCl 75g, sodium pyruvate 1 g, agar 15 g, mannite 10 g and bromcresol purple 1000 ml of purified water was added to 20 mg. After sterilizing this, yolk liquid is added to the rate of 5% (weight/volume), it passed 20 ml each on the petri dish, and it was solidified.

Plate agar B (mannite salt yolk nutrient) meat extract of a comparative example 1.0 g, Peptone 10.0 g, mannite 10.0 g, NaCl 75.0g, Phenol Red 0.025g and agar 1000 ml of purified water was added to 15.0 g (it markets from Kyokuto Pharmaceutical Industrial Co., Ltd. as a Far East mannite salt agar medium). After sterilizing this, yolk liquid is added to the rate of 5% (weight/volume), it passed 20 ml each on the petri dish, and it was solidified.

20 shares of *Staphylococcus aurei* and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* which have been proved that they are Examples 1-2 and the comparative example 1 - 2 MRSA. (It is hereafter written as MSSA) The smear of the 20 shares was carried out to each of the plate agar of this invention, and the plate agar A of a comparative example and the plate agar B of a comparative example, culture was performed at 35 ** for about 24 hours, and growth of *Staphylococcus aureus* was considered. A result is shown in Table 1.

[0019]

[Table 1]

表 1

	培地	MRSA	MSSA
実施例 1	本発明の平板培地A	20株	0株
実施例 2	本発明の平板培地B	20株	0株
比較例 1	比較例の平板培地A	20株	20株
比較例 2	比較例の平板培地B	20株	20株

[0020] Although all test organism stocks were all increasing in the plate agar of a comparative example, in the plate agar of this invention, only MRSA increased selectively.

The smear of 20 shares of CNS which has turned out to be Example 3 and the comparative example 3 - 4 drug-resistant CNS, and 20 shares of CNS of methicillin sensitivity was carried out to each of the plate agar of this invention, the comparative example plate agar A, and the comparative example plate agar B, culture was performed at 35 ** for about 24 hours, and growth of CNS was considered. A result is shown in Table 2.

[0021]

[Table 2]

表 2

	培地	多剤耐性CNS	メチシリン感受性CNS
実施例 3	本発明の平板培地A	20株	0株
比較例 3	比較例の平板培地A	20株	20株
比較例 4	比較例の平板培地B	20株	20株

[0022]Although all test organism stocks were all increasing in the plate agar of a comparative example, in the plate agar of this invention, only methicillin tolerance CNS which shows multiple drug resistance increased selectively.

In order to grasp the MRSA possession situation between example 4 hospital workers, the skin surface of five hospital workers' (A, B, C, and D) *****, the pharynx, and a palm was swept away with the sterilization cotton swab, and what unfolded this cotton swab to a 1-ml sterilization physiological saline well was used as a sample. The smear of 0.1 ml of this sample was uniformly carried out to the plate agar surface of this invention, culture was performed at 37 ** for about 24 hours, and growth of the bacillus was considered. About the colony of staphylococci other than MRSA, in the rabbit plasma coagulation test (coagulase test), when all the stocks were netative, it judged that it was drug-resistant CNS. A result is shown in Table 3.

[0023]

[Table 3]

表 3

部位	対象者	菌数	
		MRSA	CNS
鼻前底	A	1	0
	B	1	5
	C	0	4
	D	7	9
	E	0	0
咽頭	A	0	0
	B	1	0
	C	0	0
	D	3	4
	E	0	0
手のひら	A	0	0
	B	0	3
	C	0	0
	D	0	0
	E	0	1

[0024]

[Effect of the Invention] According to this invention, it can be made to be able to increase selectively and Staphylococcus in which multiple drug resistance is shown can be detected. Therefore, the culture medium of this invention is dramatically useful.